



各 位

会 社 名 寿スピリッツ株式会社
(URL <https://www.kotobukispirits.co.jp/>)
代 表 者 名 代表取締役社長 河越誠剛
(コード：2 2 2 2 東証第一部)

新型コロナウイルス（SARS - CoV-2）に対する藍由来抽出物の不活化効果を確認

寿スピリッツ株式会社と奈良県立医科大学との共同研究により実証

寿スピリッツ株式会社（鳥取県米子市 代表取締役社長 河越誠剛）は、公立大学法人奈良県立医科大学（注1）及び一般社団法人 MBT コンソーシアム（注2）協力のもと、藍由来抽出物が新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の不活化（注3）に効果があることを確認しました。

当社では、これまでも長く藍の研究を行い、近年では新たなポリフェノールを発見するなど、健康食材としての可能性に注目し、エビデンスの取得に注力し、いち早く産学連携を進めてまいりましたことから、この度の共同研究において、本結果を得るに至りました。

なお、使用している藍は、とくしま安2農産物（安2GAP）（注4）の認証を受けたものです。

[注]

1. 奈良県立医科大学（理事長・学長 細井裕司）：昭和20年4月設立、橿原市
2. MBT コンソーシアム（理事長 細井裕司）：医学的知識をすべての産業に投入してイノベーションを起こす MBT（Medicine-Based Town、医学を基礎とするまちづくり）の理念を達成するために設立された一般社団法人で、現在ほぼすべての業種から170社以上が参加している。
3. ウイルスの不活化：ウイルスの感染性を失わせること。
4. とくしま安2農産物：GAP（GoodAgriculturalPractice/農業生産工程管理）を導入し、「食品安全」に加え、「環境保全」や「労働安全」に配慮した優れた農業生産体制で生産された農作物。徳島県が検査・認定する制度。

藍由来抽出物による新型コロナウイルスに対する不活化効果の評価

[奈良県立医科大学 微生物感染症学]

◆研究目的

藍由来抽出物が持つ新型コロナウイルスに対する感染抑制能を明らかにすること。

◆試験ウイルス

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2；2019-nCoV JPN/TY/WK-521 株）

新型コロナウイルスを VeroE2/TMPRESS2 細胞に感染させ、細胞変性効果が確認されたものを回収し、濃縮・精製した。これを試験ウイルス液とし、試験まで-80℃のフリーザーに凍結保存した。

なお、SARS-CoV-2 は国立感染症研究所より、VeroE6/TMPRSS2 細胞は、国立研究開発法人医療基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクよりそれぞれ入手した。

◆試験内容

- ・ウイルス液 100 μ l と試験品（1%または0.1%）100 μ l を表1の作用時間で接触させた。
- なお、試験品は以下の通りである。

藍抽出物 DIAION 処理品：藍の地上部を熱水抽出し、DIAION HP-20 カラムで糖、タンパク質などの夾雑物を取り除いた試料

藍由来ポリフェノール：上記の藍抽出物 DIAION 処理品をさらに精製し、4 つの 3, 5, 4'-トリヒドロキシ-6, 7-メチレンジオキシフラボン配糖体を含む試料

- ・作用時間後に反応停止を行い VeroE6/TMPRESS2 細胞に感染させ、ウイルス感染価を測定した。

表 1 ウイルス感染値の推移

試験品	作用時間		
	0 分	5 分	30 分
PBS (コントロール)	5.75×10^6	5.50×10^6	2.75×10^6
藍抽出物 DIAION 処理品 1%	5.75×10^6	3.50×10^5	7.00×10^4
藍抽出物 DIAION 処理品 0.1%	5.75×10^6	6.75×10^5	5.00×10^4
藍由来ポリフェノール 1%	5.75×10^6	6.50×10^5	7.00×10^4
藍由来ポリフェノール 0.1%	5.75×10^6	2.10×10^6	1.25×10^6

検出限界値： $<1.00 \times 10^2$

表 2 ウイルスの不活化効果と減少率

試験品		作用時間		
		0 分	5 分	30 分
藍抽出物 DIAION 処理品 1%	不活化効果 (Mv)	—	1.20	1.59
	減少率 (%)	—	93.636%	97.454%
藍抽出物 DIAION 処理品 0.1%	不活化効果 (Mv)	—	0.91	1.74
	減少率 (%)	—	87.727%	98.181%
藍由来ポリフェノール 1%	不活化効果 (Mv)	—	0.93	1.59
	減少率 (%)	—	88.181%	97.454%
藍由来ポリフェノール 0.1%	不活化効果 (Mv)	—	0.42	0.34
	減少率 (%)	—	61.818%	54.545%

※減少率 (%) は小数点第 4 位以下切り捨て ※測定 7 ポイント×実施 3 回

※試験は、奈良県立医科大学内のバイオセーフティーレベル 3 (BSL 3) の実験施設において、適切な病原体封じ込め装置のもとに行った。

$$\begin{aligned} \text{・ 不活化効果 (Mv)} &= \log(C_t/C_0) - \log(N_t/N_0) \\ &= \log C_t/N_t \end{aligned}$$

Ct : コントロール t 時間後の感染価
C₀ : コントロール 0 時間後の感染価
Nt : 試験品 t 時間後の感染価
N₀ : 試験品 0 時間後の感染価

$$\text{・ 減少率} = (1 - 1/10^{\text{対数減少値}}) \times 100\%$$

◆結果

表 1～2 に示した通り、新型コロナウイルスに対し、30 分の接触で 95%以上の感染価減少率を示したのは、藍由来ポリフェノール 1%で 7.00×10^4 PFU/mL (減少率 97.454%)、藍抽出物 DIAION 処理品 1%で 7.00×10^4 PFU/mL (減少率 97.454%)、藍抽出物 DIAION 処理品 0.1%で 5.00×10^4 PFU/mL (減少率 98.181%) であった。

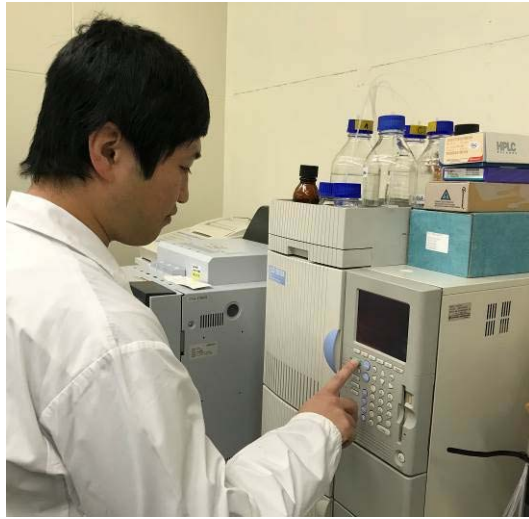
◆まとめ

本試験で使用した藍由来抽出物のなかで、藍由来ポリフェノール 1%、藍抽出物 DIAION 処理品 1%、藍抽出物 DIAION 処理品 0.1%は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に接触させることにより、不活化させる効果が見られた。これらを使用することにより、物質の表面についての新型コロナウイルスによる接触感染防止に有効であることが期待される。

なお空間に浮遊するウイルスへの効果、人体への影響については、検証を行っていない。



(写真上) 検査の様子



(写真上) 検査の様子



(写真上) 徳島県産藍葉



(写真上) 藍の生産農場

以上

【本リリースに関する問い合わせ先】
寿製菓株式会社 研究開発部 部長 木村英人
TEL : 0859-22-7456 (代表)

鳥取県米子市旗ヶ崎 2028
E-mail : kotobukiRD@kozuchi-net.jp

藍の健康機能に関する過去のリリース資料

- ・ 藍のポリフェノール成分が炎症を抑える効果を有することを発見
生化学誌 Applied Biochemistry and Biotechnology で発表（2017 年 7 月 28 日）
- ・ タデアイ（藍）フラボノイドの潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用を確認
国際医薬学誌 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis で発表（2020 年 11 月 17 日）

News Release

2017 年 7 月 28 日 寿スピリッツ株式会社



各 位

会 社 名 寿スピリッツ株式会社
(URL <http://www.kotobukispirits.co.jp/>)
代 表 者 名 代表取締役社長 河越誠剛
(コード：2 2 2 2 東証第一部)

藍のポリフェノール成分が炎症を抑える効果を有することを発見 生化学誌 *Applied Biochemistry and Biotechnology* で発表

当社のグループ会社であります寿製菓株式会社（鳥取県米子市 代表取締役社長 城内正行）は、2013年から国立大学法人島根大学生物資源科学部の横田一成教授とタデアイ（以下、藍と表記）の機能性について共同研究を行ってまいりました。今回、藍の抗炎症作用について生化学誌 *Applied Biochemistry and Biotechnology* で発表しましたのでお知らせします。

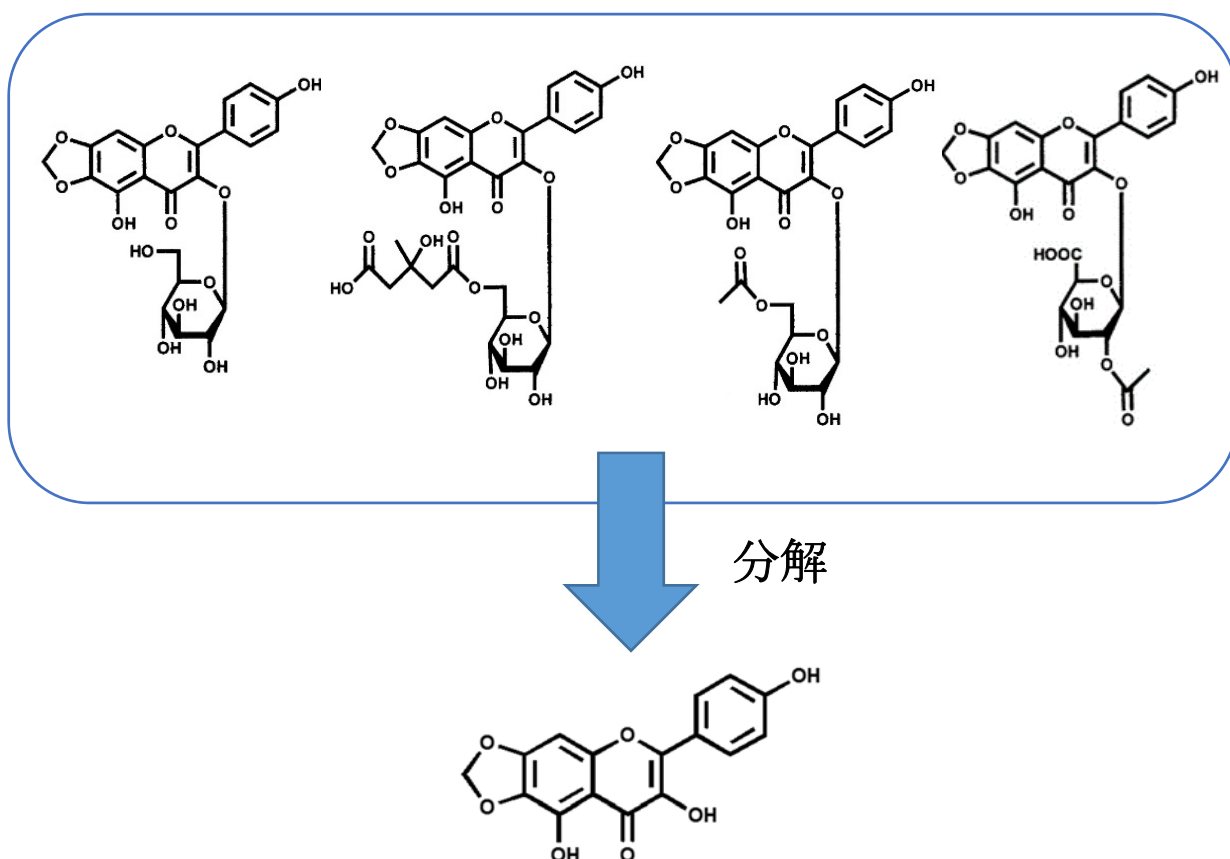
当社のグループ会社であります寿製菓株式会社（鳥取県米子市 代表取締役社長 城内正行）は、藍を健康食品原料として販売することを目的に、2013年から国立大学法人島根大学生物資源科学部の横田一成教授と藍の健康機能成分の研究を行ってまいりました。藍の安全性については、急性毒性試験、農薬分析、重金属・ヒ素分析、復帰突然変異試験（Ames試験）、皮膚一次刺激性試験、皮膚感作性試験などにより確認し、同社では「藍水抽出液粉末」を販売しております。また、当社のグループ会社である純藍株式会社（東京都港区 代表取締役社長 河越誠剛）では寿製菓株式会社が藍から新規に発見した3種類のポリフェノールを『純藍ポリフェノール』と命名し「濃い藍の青汁」「純藍茶」「うる藍バリア」「藍の快調サポート」等を販売しております。

近年、花粉症やアトピー性皮膚炎などのアレルギー炎症性疾患が増えており、天然由来の抗炎症物質についての研究が盛んに行われています。藍には消炎作用があることは古くから知られていましたが、その作用物質についての報告は少なく、詳細は不明のままでした。そこで、当社は、藍の抗炎症成分について国立大学法人島根大学生物資源科学部と研究を行いました。

この研究の結果、2015年に当社と国立大学法人島根大学が *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 108巻, 102-112頁で発表した藍のフラボノイド類のうち、主要な成分のフラボノール配糖体が加水分解されて生成したアグリコンが抗炎症作用を示すことが明らかとなりました。藍の抗炎症物質としては、すでにトリプタンスリンという物質が報告されていますが、トリプタンスリンに比べ、藍のフラボノール配糖体は約50倍、多く藍に含まれており、藍の抗炎症作用には、これらのフラボノール配糖体が大きな役割を果たしていると推察されました。藍のフラボノール配糖体は、藍特有の3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシフラボン（TMF）に糖が結合した構造をしています。ある種のフラボノイド配糖体は、生体内で腸内細菌などにより分解され、アグリコンとなり吸収されることが知られています。

今回の試験では、藍に由来する TMF をアグリコンとするフラボノール配糖体が生体内で加水分解され、抗炎症作用をもつ TMF に変換されることを解明することができました。

今後、生体内における炎症への効果について国立大学法人島根大学生物資源科学部と研究を進め、藍の機能性をさらに明らかにしていく予定であります。



3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシフラボン (TMF) は、炎症を抑える作用をもつ

今回の研究成果は、生化学分野の学術誌である *Applied Biochemistry and Biotechnology* に掲載予定であります。オンライン版は7月18日より

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-017-2555-8> で公開されております。

論文名 : In vitro anti-inflammatory and antioxidant activities of 3,5,4'-trihydroxy-6,7-methylenedioxyflavone-*O*-glycosides and their aglycone from leaves of *Polygonum tinctorium* Lour.

著者 : Shota Tokuyama-Nakai, Hideto Kimura, Tomoe Ishihara, Mitsuo Jisaka, Kazushige Yokota

<参考 URL>

寿製菓株式会社 URL: <http://www.okashinet.co.jp/>

純藍株式会社 URL: <http://www.junai-inc.co.jp/>

【本リリースに関するの問い合わせ先】

寿製菓株式会社 研究開発部 部長 木村英人
鳥取県米子市旗ヶ崎 2028/TEL:0859-22-7456(代表)/FAX:0859-22-7886

以上

問い合わせ先 : 寿スピリッツ株式会社 取締役経営企画部部長 松本 真司
TEL:0859-22-7477 (代表)



各 位

会 社 名 寿スピリッツ株式会社
(URL <https://www.kotobukispirits.co.jp/>)
代 表 者 名 代表取締役社長 河越誠剛
(コード：2 2 2 2 東証第一部)

タデアイ（藍）フラボノイドの潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用を確認

国際医薬学誌 *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* で発表

当社のグループ会社であります寿製菓株式会社（鳥取県米子市 代表取締役社長 城内正行）は、2013 年より国立大学法人島根大学生物資源科学部の横田一成教授とタデアイ（以下、藍と表記）の機能性について共同研究を行っております。

この度、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）により誘発された潰瘍性大腸炎モデルマウスでの藍フラボノイドの抗炎症作用について、国際医薬学誌 *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* で発表しましたのでお知らせします。

今回の研究成果は、2021 年 1 月 30 日発行の *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 193: Article 113716 (doi: 10.1016/j.jpba.2020.113716) に掲載予定であります。

オンライン版は 2020 年 11 月 15 日より

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708520316022> で公開されております。

論文名：Anti-inflammatory and bioavailability studies on dietary

3,5,4'-trihydroxy-6,7-methylenedioxyflavone-*O*-glycosides and their aglycone from indigo leaves in a murine model of inflammatory bowel disease

著者：Hideto Kimura, Shota Tokuyama-Nakai, Yu Hirabayashi, Tomoe Ishihara, Mitsuo Jisaka, Kazushige Yokota

（発表内容のまとめ）

藍葉の熱水抽出物から主要な 4 つのフラボノイド配糖体を得ました。これらは以前に報告した 3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシフラボン（以下、TMF）をアグリコンとする配糖体（以下、TMF 配糖体）です。リポポリサッカライド（LPS）刺激した動物細胞（マクロファージ細胞）を使った実験で、遊離の TMF は炎症性サイトカインの遺伝子発現を抑制し、一方で、炎症を抑制するサイトカイン発現を増加させました。なお、サイトカインとは生体内の免疫や炎症など生体反応に関する生理活性物質です。さらに、*in vivo* の動物実験系である DSS 誘発性の潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用を評価したところ、TMF 配糖体および遊離の TMF は大腸の炎症を有意に抑制しました。TMF 配糖体を投与したマウスの糞中には、遊離の TMF が主に含まれていました。そして、肝臓中には TMF のグルクロン酸抱合体が確認されました。このことから、マウスに投与された TMF 配糖体は消化管で遊離の TMF に分解されて体内に吸収されて抗炎症作用を示すことが明らかになりました。これらの結果から、藍由来の TMF 配糖体は民間薬的あるいは食品として生体内の炎症を抑えることが期待されます。

(横田教授コメント)

藍葉に豊富に含まれる独特の化学構造をもつフラボノール配糖体に属する TMF 配糖体が消化吸収により遊離の TMF へ変換されて生体内で抗炎症作用を示すことを証明した有意義な研究です。これまでの培養細胞系での研究では、アグリコンである遊離の TMF の抗炎症効果は明らかでしたが、TMF 配糖体の効果は遊離の TMF に比べて弱いものでした。しかし、今回の動物実験系で食餌として投与した TMF 配糖体は、遊離の TMF と同じように潰瘍性大腸炎を予防することを明らかにしました。このように、藍葉の TMF 配糖体は、健康食品や医薬品資源の開発に有用といえます。

(研究の目的)

藍は染料や食品として利用される一方で、古くから、解毒、解熱、消炎などさまざまな薬用効果があるといわれてきました。しかしながら、藍には未確認の物質が多数存在したことより、2015 年には成分分析の結果、藍の主要な成分は TMF をアグリコンとする TMF 配糖体であることを明らかにしました。さらに 2018 年には、細胞レベルでの TMF 配糖体およびアグリコンの TMF の抗炎症作用について発表いたしました。

過去の報告で、フラボノイドであるケルセチンが潰瘍性大腸炎モデルラットでの実験で抗炎症作用を示すことが報告されていました (1)。藍にはフラボノイドである藍特有の TMF 配糖体が多く含まれていることと、前述の細胞レベルでの実験で抗炎症作用を確認していることから、藍フラボノイドの生体内での抗炎症作用を明らかにする目的で、DSS 誘発性の潰瘍性大腸炎を起こしたマウスで実験を行いました。

(1) 参考文献 : D.Dodda, R. Chhajed, J. Mishra, Protective effect of quercetin against acetic acid induced inflammatory bowel disease (IBD) like symptoms in rats: Possible morphological and biochemical alterations, *Pharmacol. Rep.* 66 (2014) 169–173.

(試験方法および結果)

1. LPS によるマクロファージ細胞での炎症性サイトカインの遺伝子発現

藍葉の熱水抽出物から、4 つの TMF 配糖体を含むフラクションを得ました。TMF 配糖体から遊離の TMF を調製しました。マクロファージ細胞に LPS を加えることで炎症性サイトカイン遺伝子が発現する環境で遊離の TMF を加え、これらの遺伝子発現を抑制するかを調べました。この結果、遊離の TMF を加えた試験区では、無投与区に比べインターロイキン (IL)-1 β , IL-6, 誘導性 NO 合成酵素 (iNOS) 及び腫瘍性壊死因子 (TNF)- α の遺伝子発現を抑制しました。一方で、炎症を抑制するサイトカインである IL-10 の発現を増加させました。

2. DSS 潰瘍性大腸炎モデルマウスで抗炎症作用

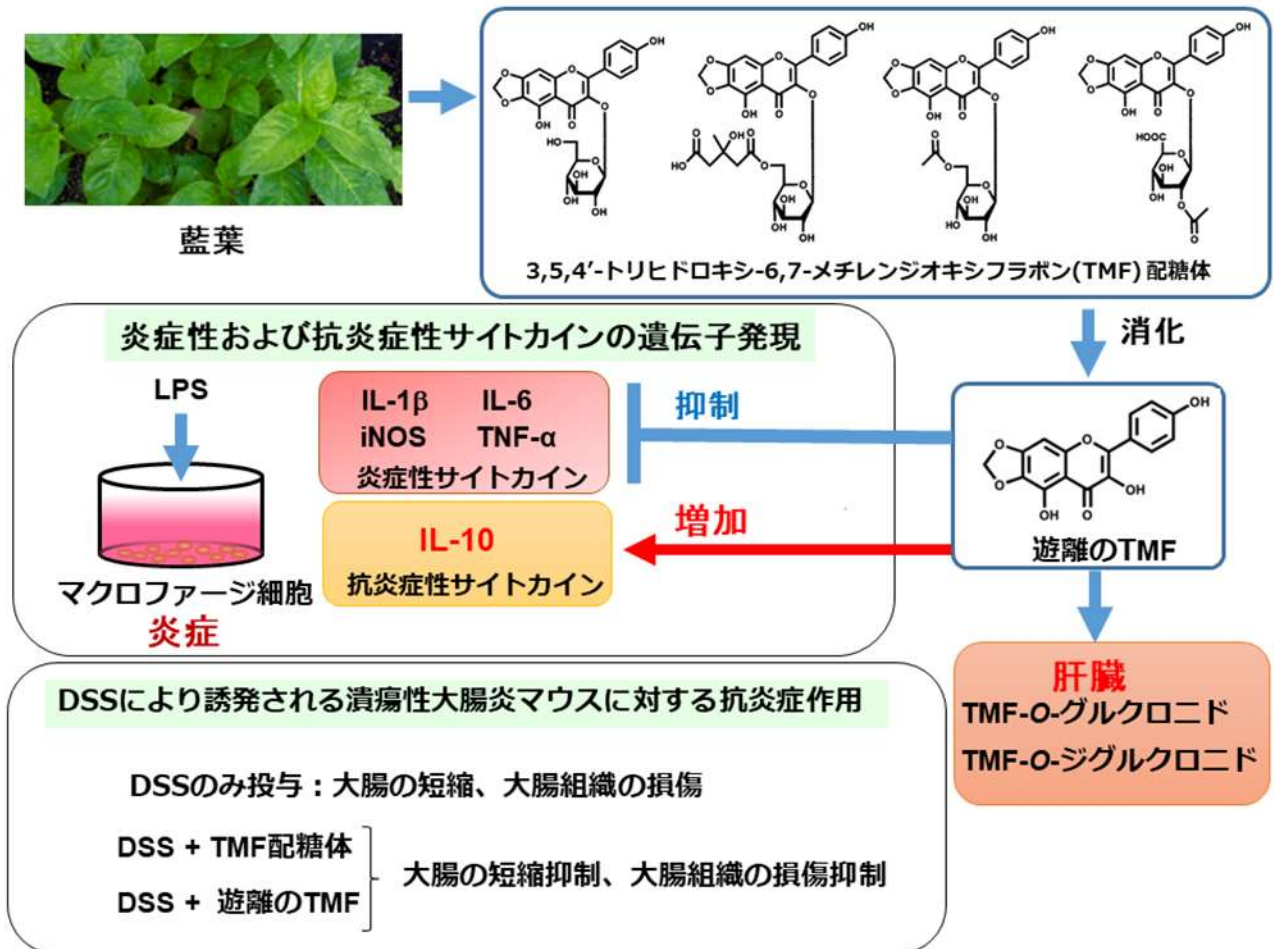
DSS をマウスに与えると潰瘍性大腸炎を引き起こすことが知られています。この際、体重減少や、大腸組織の損傷、大腸長の短縮などの症状が見られます。

今回、DSS を投与し潰瘍性大腸炎を誘導したマウスに TMF 配糖体および遊離の TMF を投与したところ、大腸組織の損傷、体重の低下、大腸長の短縮が抑制されました。

※潰瘍性大腸炎とは

潰瘍性大腸炎は、大腸粘膜に炎症がおこり、びらんや潰瘍ができる炎症性疾患です。この原因として食習慣やストレスなどが関係しているといわれていますが、原因解明には至っておりません。潰瘍性大腸炎は、指定難病とされており、この患者数は年々増加しております。

本研究の要約図



【本リリースに関するの問い合わせ先】

寿製菓株式会社 研究開発部 部長 木村英人
鳥取県米子市旗ヶ崎 2028 TEL : 0859-22-7456 (代表)
E-mail : kotobukiRD@kozuchi-net.jp

以上

問い合わせ先 : 寿スピリッツ株式会社 取締役経営企画部長 松本 真司
TEL:0859-22-7477 (代表)